Über den mikrochemischen Zuckernachweis durch essigsaures Phenylhydrazin

von

Em. Senft.

Aus dem pflanzenphysiologischen Institute der k. k. Universität in Wien.

(Mit 2 Tafeln.)

(Vorgelegt in der Sitzung am 4. Februar 1904.)

Einleitung.

Der Nachweis des Zuckers in dem Gewebe der Pflanzen ist sowohl in anatomischer als auch physiologischer Beziehung häufig von großer Wichtigkeit. Es werden ja auch zahlreiche Methoden für diese Zwecke in Anwendung gebracht.

Der von Emil Fischer[1] in die Chemie eingeführte Zuckernachweis mittels essigsaurem Phenylhydrazin erschien mir zum mikrochemischen Zuckernachweise viel sicherer als die bis jetzt gebrauchten Reaktionen und ich habe bereits früher nach einer Reihe von einschlägigen Versuchen meine zu diesem Zwecke modifizierte Methode kurz mitgeteilt.[2]

Nun will ich im nachstehenden diese Methode eingehender besprechen und ihre Anwendbarkeit bei mikrochemischen Arbeiten darlegen.

Vorerst erscheint es zweckmäßig, eine kurze Kritik der bisherigen Methoden des mikrochemischen Zuckernachweises zu geben.

---

[1] Fischer Em., Synthesen in der Zuckergruppe. Berichte der Deutschen chem. Gesellschaft, 1890, Bd. 23, p. 2114 und Fortsetzungen.

[2] Senft Em., Zum mikrochemischen Nachweise des Zuckers. Pharm. Post, Wien 1902, Nr. 29.

I. Die bis jetzt zum mikrochemischen Nachweise des Zuckers gebrauchten Methoden.

Die Eigenschaft der Glykosen (Monosaccharide-Hexosen), aus alkalischen Kupferlösungen unter erfolgter Reduktion das rote Kupferoxydul abzuscheiden, wurde zum mikrochemischen Nachweise des Zuckers zuerst gebraucht.

Zu diesem Zwecke wurde die Kupfersulfatmethode vielfach modifiziert, so von Sachs,[1] Flückiger,[2] Schimper,[3] A. Fischer,[4] A. Mayer,[5] Czapek,[6] Hofmeister[7] und anderen.

Die Reaktion gab sich kund in der Ausscheidung eines amorphen Niederschlages von Kupferoxydul. Unter günstigen Verhältnissen konnte das letztere auch krystallinisch gewonnen werden (Taf. I, Fig. 1).

Alle Modifikationen der ursprünglich Sachs'schen[8] Methode haben ihre Vorteile, sie sind jedoch alle mit dem unliebsamen Fehler behaftet, daß durch die alkalische Kupferlösung in der Siedehitze ja mitunter ohne vorheriges Erwärmen auch andere Stoffe Glykose abspalten oder überhaupt reduzierend wirken und so häufig das Vorhandensein von Zucker vortäuschen können (Glykoside, manche Farbstoffe, Phloroglucin, Amylodextrin und andere).

Weiter ist auch als ein sehr unliebsamer Umstand die Unhaltbarkeit des Reagens zu berücksichtigen.

---

1 Sachs, Mikrochemische Reaktionsmethoden. Münch. akad. Sitzungsberichte, 1859, Flora 1862, p. 289.

2 Flückiger, Pharmakognosie.

3 Schimper, Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung der vegetabilischen Nahrungs- und Genußmittel. Jena 1900.

4 Fischer A., Beiträge zur Physiologie der Holzgewächse. Pringsheim's Jahrbücher, Bd. XXII, p. 73.

5 Mayer A., Mikrochemische Reaktion zum Nachweise der reduzierenden Zuckerarten. Ber. der Deutschen botan. Gesellschaft, 1885, p. 332.

6 Czapek, Über die Leitungswege der organ. Baustoffe im Pflanzenkörper. Diese Sitzungsberichte, Bd. CVI, Abt. I, März 1897, S. 14 des Separatabdruckes.

7 Hofmeister in Pringsheim's Jahrbücher für wissensch. Botanik, Bd. 31 v. 1897, p. 688.

8 Sachs l. c.

Diese Nachteile wurden bald erkannt und man versuchte es, dieselben durch verschiedene Modifikationen der ursprünglichen Methode möglichst zu verringern. Es ist dies jedoch nie vollkommen gelungen. Vor allem wird von verschiedenen Körpern glykosidischer Natur durch die bei der Reaktion einerseits angewendete Hitze bei Vorhandensein von Wasser und starkem Alkali, anderseits durch Enzyme die Glykose abgespalten.

G. Kraus[1] hat für den mikrochemischen Zuckernachweis zum Unterschiede des indirekten Nachweises eine direkte, von ihm als morphologische Reaktion bezeichnete Methode angewendet. Dieselbe beruht darauf, daß durch Einwirkung von Glyzerin oder Alkohol die Zuckerausscheidung in Tröpfchenform erfolgt. Diese Methode besitzt ebenfalls ihre Nachteile, welche darin bestehen, daß die Zuckerarten aus unreinen Lösungen erst bei Vorhandensein von größeren Mengen auf diese Art zu isolieren sind; anderseits werden durch Glyzerin oder Alkohol viele andere Körper in Tröpfchenform ausgeschieden.

Molisch[2] empfiehlt zum mikrochemischen Zuckernachweise α-Naphtol und Schwefelsäure, respektive Thymol und Schwefelsäure.

Diese prompt auftretende Reaktion hat nur den Nachteil, daß unter Einwirkung von Schwefelsäure von verschiedenen Stoffen (Glykosiden, Zellulose, Stärke und anderen) Glykose gebildet, beziehungsweise abgespalten wird, ferner daß auch andere Stoffe, namentlich manche Zersetzungsprodukte des Zuckers,[3] diese Reaktion liefern.

II. Das Prinzip der modifizierten Fischer'schen Phenylhydrazinmethode.

Die als Monosaccharide bezeichneten Zuckerarten, welche Aldehyd- oder Ketongruppen enthalten, besitzen bekanntlich die Fähigkeit, sich entsprechend den Aldehyden und Ketonen

[1] G. Kraus, Botanische Zeitung, 1876, p. 604.

[2] Molisch, Zwei neue Zuckerreaktionen. Diese Sitzungsberichte, math.-naturw. Kl., Bd. 97, Abt. I, p. 264.

[3] Hoppendeyler, Furfurol.

mit Phenylhydrazin zu verbinden. Bei gewöhnlicher Temperatur verbinden sie sich mit einem Molekül Phenylhydrazin zu farblosen, meist in Wasser leicht löslichen Hydrazonen.

$$C_6H_{12}O_6 + N_2H_3 . C_6H_5 = H_2O + C_6H_{12}O_5 + N_2H . C_6H_5.$$

Bei Erwärmen mit essigsaurem Phenylhydrazin im Überschusse verbinden sich die Monosaccharide, ebenso Milchzucker, Isomaltose und Maltose mit 2 Molekülen Phenylhydrazin zu gelben, in Wasser fast unlöslichen Verbindungen, den Osazonen.

$$C_6H_{12}O_6 + 2\,N_2H_3 . C_6H_5 = 2\,H_2O + H_2 + C_6H_{10}O_4 (N_2H . C_6H_5)_2.$$

Traubenzucker, Fruchtzucker und Mannose bilden die Osazone direkt, während der Rohrzucker zuerst in die beiden ersteren gespalten werden muß, um das Osazon bilden zu können.

Wie ich in der Einleitung bemerkt habe, hielt ich diese Methode für den mikrochemischen Nachweis geeignet; sie mußte jedoch zu diesem Zwecke eine Modifikation erfahren.

Die Verwendung des Reagens in wässeriger Auflösung, wie sie zum Nachweise des Zuckers diente, konnte aus folgenden Gründen nicht benützt werden:

1. Das Behandeln der Schnitte in größerer Menge dieser Lösung würde dadurch nachteilig werden, daß die Zuckerarten, die in Wasser löslich sind, noch vor der Einwirkung des Reagens aus dem Schnitte herausgelaugt würden und daß es zur Bildung des Osazons außerhalb des Präparates kommen möchte.

2. Die minimale Menge der zuzusetzenden Flüssigkeit, welche nötig wäre, um den Raum zwischen Deckglas und Objektträger auszufüllen und das Präparat zu bedecken, möchte bei Erwärmen am Wasserbade schnell verdunsten.

Durch den eventuellen vorsichtigen Ersatz der verdampfenden Flüssigkeit durch eine neue Menge hätte man nie eine konstante, zur Durchführung der Reaktion notwendige Konzentration erlangt.

3. Es war schließlich auch wünschenswert, bei der Anwendung der Reaktion eine Flüssigkeit zu gebrauchen, in

welcher die Zuckerarten nur schwer löslich sind und welche zugleich, um das Übertragen zu ersparen und die damit meist verbundene Schädigung der Objekte zu verhindern, eventuell zugleich als Einschlußflüssigkeit dienen könnte.

Als eine solche Flüssigkeit hat sich das Glyzerin bewährt; es besitzt nicht die Nachteile der wässerigen Auflösung und ist auch erfreulicherweise imstande, beide Komponenten des Reagens, wie das salzsaure Phenylhydrazin, so auch das essigsaure Natrium aufzulösen. Dagegen bleiben die gebildeten Osazone vollkommen intakt. Durch Versuche gelangte ich zu dem Schlusse, daß die Lösungen der Reagentien in Glyzerin im Verhältnisse 1:10 am zweckmäßigsten sind. Beide Komponenten des Reagens sind, wie bereits erwähnt wurde, in Glyzerin leicht löslich. Insbesondere, wenn beide Salze früher pulverisiert waren, geht die Auflösung, welche eventuell durch Erwärmen am Wasserbade beschleunigt werden kann, sehr schnell vor sich. Die Lösungen werden in getrennten Stiftfläschchen aufbewahrt und das Reagens erst im Bedarfsfalle zusammengemischt. Manchmal geschieht es, daß in der Auflösung von Phenylhydrazin nach längerer Zeit eine spärliche Abscheidung von Phenylhydrazinkriställchen zustande kommt; dadurch wird jedoch das Reagens und auch der Erfolg der Reaktion nicht im geringsten beeinträchtigt. Die Phenylhydrazinlösung dunkelt, dem Lichte ausgesetzt, etwas nach und wird gelb bis bräunlich. Durch das Aufbewahren derselben in blauen Fläschchen wird diese Eigenschaft, welche, nebenbei bemerkt, keinen Einfluß auf die Reaktion ausübt, verhindert.[1]

Zur Ausführung der Reaktion benütze ich noch immer Lösungen, welche ich mir vor drei Jahren hergestellt habe. Es ist demnach das Reagens von ausgezeichneter Haltbarkeit.

Zur Reaktion werden natürlich der leichten Löslichkeit des Zuckers wegen keine früher in Wasser aufgeweichten Schnitte benützt, sondern entweder frisches Material, Glyzerin- oder Alkoholmaterial und bei den getrockneten Objekten (Drogen und anderen) Schnitte des unaufgeweichten Objektes.

[1] Die Firma Merck in Darmstadt hat mein Reagens in ihr Reagentienverzeichnis hineingenommen und es kann dasselbe von dieser Firma in tadelloser Qualität fertig bezogen werden.

Das als Lösungsmittel für beide Komponenten des Reagens gebrauchte Glyzerin vereinigt in den früher erwähnten Vorzügen noch eine bis zu gewissem Grade quellende und aufhellende Eigenschaft, so daß auch dickere Schnitte recht brauchbare Bilder liefern.

Zur Ausführung der Reaktion werden auf dem Objektträger je ein Tropfen der Phenylhydrazin- und Natriumacetatlösung mit einer Präpariernadel innig vermischt und der Schnitt des fraglichen Objektes hineingelegt. Das mit dem Deckgläschen bedeckte Präparat legen wir beiseite, um es nach einigen Stunden und den zweiten Tag zu untersuchen.

Das zweite, ebenso hergestellte Präparat wird am siedenden Wasserbade eine halbe Stunde erwärmt und auskühlen gelassen. Bei zuckerhaltigen Schnitten gibt sich schon während des Erwärmens am Wasserbade die Reaktion durch eine intensive Gelbfärbung der Schnitte selbst, sowie auch der dieselben umgebenden Flüssigkeit kund. Gewöhnlich schon beim Abkühlen des Präparates kann man unter dem Mikroskope sehr schöne Garben oder Büschel des Osazons wahrnehmen, welche teils im Gewebe selbst, teils außerhalb des Schnittes und da besonders am Rande des Deckgläschens sich abgeschieden haben.

Das Erwärmen der Schnitte am Wasserbade dient in den meisten Fällen bloß zur Beschleunigung der Reaktion, denn man kann in gewissen Fällen, auf welche ich später eingehen will, ohne vorheriges Erwärmen — und diesen Umstand erwähne ich als besonders wichtig — zu gleichen Resultaten gelangen, nur mit dem Unterschiede, daß bei Erwärmen die Ausbildung der Osazonkristalle sehr schön und rasch in den oben angegebenen Formen erfolgt, bei der in der Kälte vor sich gegangenen Reaktion kommt es bloß zur Bildung kleiner Büschel, meist aber zur Bildung von Sphärokristallen, welche im polarisierten Lichte deutlich doppelbrechend erscheinen.

Dadurch, daß die Reaktion auch in der Kälte erfolgt und der Zucker durch den energischen Eingriff der Wärme aus dem Gewebe nicht heraustritt, werden wir in die Lage versetzt, das Reagens lokal einwirken lassen zu können.

Je nachdem, ob wir bloß den Zucker im Gewebe nachweisen oder ob wir die Lokalisation desselben studieren wollen, werden wir uns bald der ersteren, bald der letzteren Methode bedienen, am besten, wenn wir stets beide gegenseitig zur Kontrolle ziehen.

Die Menge des Zuckers steht mit der Ausscheidung des Osazons sowie auch der Form und Größe seiner Kristalle im direkten Zusammenhang.

Ebenfalls spielt der Wassergehalt des Objektes eine große Rolle. Je wasserreicher das Gewebe des untersuchten Objektes ist, desto schönere Osazonkristalle kommen zur Ausscheidung.

Auf die einzelnen Formen der Osazone, welche bei der Reaktion zutage treten, werde ich bei der Ausführung einiger Versuche näher eingehen.

Das einzige, was sich gegen diese Methode einwenden ließe, ist das, daß durch die wasserentziehende Eigenschaft des Glyzerins die Zellen zarter Gewebe kollabieren können.

Dieser Nachteil kommt aber kaum in Betracht, denn es handelt sich uns nicht darum, das Gewebe, sondern die Inhaltstoffe zu studieren.

Ein gleichzeitig hergestelltes Wasserpräparat wird das gewünschte Bild ergänzen.

Die das Bild störenden Luftbläschen können erst nach erfolgter Reaktion, wo kein Austritt des Zuckers in das benachbarte Gewebe mehr zu befürchten ist, mittels der Luftpumpe beseitigt werden. Schnitte, welche durch eine übermäßige Ausscheidung mit Osazon bedeckt sind, können von den anhaftenden Kriställchen durch Abspritzen mit Wasser brauchbar gemacht werden, da auf diese Weise nur mehr die im Gewebe selbst gebildeten Kristalle übrigbleiben.

Auch das längere Abschwemmen der Schnitte im Wasser ist für das gebildete Osazon, welches fast vollkommen wasserunlöslich ist, von keinem Nachteil.

Handelt es sich darum, das Osazon aus dem Gewebe zu entfernen, so kann dieses mit siedendem Alkohol geschehen; es sind indes die Osazone bei längerer Einwirkung auch in kaltem Alkohol löslich.

Die Löslichkeit der Osazone in Alkohol kann auch dazu dienen, um in solchen Fällen, wo das Osazon in weniger charakteristischen Kristallen oder in amorphen Schollen sich abscheidet, dieses durch Umkristallisieren aus heißem Alkohol rein zu gewinnen.

Aus alkoholischen Lösungen kristallisieren dann die Osazone bei spontaner Verdunstung des Alkohols meist in schönen kleinen Büscheln aus. Das Umkristallisieren kann in fraglichen Fällen auf einem hohl geschliffenen Objektträger oder einem Uhrgläschen vorgenommen werden.

Eine für uns sehr wichtige Eigenschaft der Osazone ist ihre große Resistenz gegen Kalilauge. In Präparaten, auf welche ich lange Zeit selbst 30% Kalilauge einwirken ließ, zeigte das Osazon keine Veränderung. Diese Eigenschaft kann vorteilhaft zum nachträglichen Aufhellen der Präparate benützt werden. Die Neutralisation der mit Kalilauge aufgehellten Schnitte mittels Essigsäure wird anstandslos vertragen.

Zum eventuellen Nachfärben der Objekte dürfen nur wässerige oder Glyzerin-, nie aber alkoholische Lösungen benützt werden. Auch gegen Chloral zeigen sich die Osazone, wenn auch nicht in dem Maße wie gegen Kalilauge, resistent.

Auf alle Fälle übt auf dieselben die zum Aufhellen der Präparate gebräuchliche 60prozentige Chlorallösung nach einer nicht zu langen Einwirkung keinen schädigenden Einfluß aus.

Als Einschlußmittel für die Präparate nimmt man entweder Glyzerin oder Glyzeringelatine; Kanadabalsameinschluß ist wegen der den Osazon schädigenden Vorbehandlung mit Alkohol unbrauchbar.

Bevor ich die vorgeführte Methode auf den Nachweis des Zuckers in Zellen und Geweben anwendete, prüfte ich zuerst unter dem Mikroskope die Einwirkung der Reagentien auf gelösten oder in Körnchenform benützten Zucker.

Zu diesem Zwecke habe ich teils mit wässerigen Zuckerlösungen 1 : 1, teils mit gleich schweren Zuckerkörnchen die Reaktion ausgeführt.

Je ein Tropfen der Zuckerlösung oder das Zuckerkörnchen wurden mit dem Reagens vermengt und von jeder Art zwei Präparate hergestellt.

Um gleiche Bedingungen bei allen Proben einzuhalten, habe ich auch die beiden Reagenskomponenten mit einer kleinen Meßpipette abgemessen.

Das eine Präparat bewahrte ich ohne es zu erwärmen auf, das zweite erhitzte ich am kochenden Wasserbade und beobachtete von Zeit zu Zeit die eingetretene Veränderung.

Zur besseren Übersicht gebe ich die Resultate der Untersuchung in Tabellenform wieder:

1. Präparate kalt behandelt.

			Nach 24 Stunden	Dritter Tag	Vierter Tag	Fünfter Tag
Dextrose-körnchen	Die Körnchen, welche meist kantig waren und bei Saccharose fast glatte Bruchstellen zeigten, werden allmählich abgerundet und korrodiert. Die der Lävulose werden schnell aufgelöst, die anderen erst in einigen Stunden.	Das Präparat färbt sich schnell gelb, schon in einigen Stunden erfolgt eine sehr reichliche Abscheidung von kleinen Sphäriten.	Zitronen-gelbe Färbung	Zitronen-gelbe Färbung	Spärliche Abscheidung von kleinen Sphäriten	Reichliche Abscheidung von kleinen Sphäriten
Lävulose-körnchen			Die Kristallbildung nimmt immer zu.			
Saccharose-körnchen			Zitronengelbe Färbung, auch nach einigen Tagen erfolgt keine Osazonbildung.			
Dextrose-lösung	—	Das Gemisch färbt sich schnell zitronengelb und schon in einigen Stunden erfolgt eine massenhafte Abscheidung von Büscheln und Sphäriten.	Zitronen-gelbe Färbung	Spärliche Abscheidung von kleinen Sphäriten	Die Krystallabscheidung nimmt immer zu.	
Lävulose-lösung	—		Die Kristallabscheidung nimmt immer zu.			
Saccharose-lösung	—		Zitronengelbe Färbung, auch nach einigen Tagen erfolgt keine Osazonbildung.			

2. Präparate am kochenden Wasserbade behandelt.

	Nach 5 Minuten	Nach 10 Minuten	Nach 15 Minuten	Nach 1/2 Stunde und Abkühlung
Dextrose-körnchen	Schwach gelbliche Färbung	Intensiv zitronengelbe Färbung	Noch intensivere zitronengelbe Färbung	Langsame Abscheidung von überaus kleinen Osazonkriställchen in Büscheln oder Sphäriten.
Dextrose-lösung	Stark orange-gelbe Färbung	Intensive, stark orangegelbe Färbung	Fast gelbbraune Färbung	Rasche Abscheidung großer Osazonkristalle in Nadeln, großen Büscheln und Garben.
Lävulose-körnchen	Intensive zitronen-gelbe Färbung	Intensive orangegelbe Färbung	Fast gelbbraune Färbung	Rasche Abscheidung von sehr dicht stehenden, kleinen Körnchen, Sphäriten und Büscheln von Osazon. An der Peripherie erfolgt die Ausscheidung von großen Garben.
Lävulose-lösung	Starke orange-gelbe Färbung	Intensive orangegelbe Färbung	Gelbbraune Färbung	Rasche und sehr reichliche Abscheidung von sehr großen Garben und Büscheln von Osazon.
Saccha-rose-körnchen	—	Schwach gelbliche Färbung	Orangegelbe Färbung	Langsame und geringe Abscheidung von meist amorphen Körnchen von Osazon.
Saccha-rose-lösung	—	Schwach zitronengelbe Färbung	Starke orangegelbe Färbung	Rasche und reichliche Abscheidung großer Osazonnadeln in Büscheln und Garben von Osazon.

Aus diesen Versuchen geht hervor:

1. Die Reaktion tritt bei Erwärmen bei der Dextrose und Lävulose schon in kurzer Zeit (5 Minuten) auf.

2. Bei der Saccharose genügt eine kurze Kochdauer, um dieselbe durch das Reagens in Invertzucker zu überführen.

3. In Objekten, welche wasserhaltig sind, respektive wo sich die Zuckerarten in der Lösung befinden, kommt es bei Erwärmen zur raschen und reichlichen Abscheidung von großen Osazonkristallen in Nadeln.

4. Die Abscheidung der Osazone in wasserarmen Objekten, insbesondere in solchen, wo die Zuckerarten in fester Form (Kristallen, Kristallmassen) enthalten sind, erfolgt eine langsame und spärliche Abscheidung von Körnchen, Sphäriten und verkümmerten Büscheln von Osazon.

5. Lävulose und Dextrose bilden auch in der Kälte mit essigsaurem Phenylhydrazin die Osazone, und zwar die Lävulose sehr schnell (in einigen Stunden), die Dextrose erst nach 24 Stunden und später.

6. Saccharose geht in der Kälte mit essigsaurem Phenylhydrazin auch nach langer Einwirkung des Reagens keine Verbindung ein und man ist somit durch unsere Reaktion imstande, im Gewebe Saccharose von Dextrose respektive Lävulose zu unterscheiden.

III. Versuche über Zuckernachweis in Pflanzengeweben.

Bei allen meinen Versuchen ließ ich in der früher angegebenen Weise entweder auf die Schnitte des Objektes das Reagens über Nacht kalt einwirken, worauf die Untersuchung am zweiten Tage erfolgte oder es wurde das Präparat durch eine halbe Stunde am kochenden Wasserbade erhitzt, gleich nach dem Erkalten unter dem Mikroskop untersucht und auch noch tags darauf geprüft.

Der Kürze halber sollen im nachfolgenden die kalt behandelten Präparate mit I, die heiß behandelten mit II bezeichnet werden.

1. Algen.

Aus dem Bassin des botanischen Gartens fischte ich Ende Oktober an einem sehr kühlen Vormittage einige Algen.

Zu Hause brachte ich dieselben in ein größeres Gefäß mit Wasser und spülte sie ab, um ein reichliches Sediment von mikroskopischen Algen zu erhalten.

Dieses zentrifugierte ich und benützte das Sediment, von welchem das Wasser fast vollständig abgegossen wurde.

Je ein Tropfen des Zentrifugates wurde mit dem Reagens gemengt, das eine Präparat bei Seite gelegt, das andere erhitzt.

Im Zentrifugate befinden sich hauptsächlich folgende Algen: *Micrasterias falcata*, *Scenedesmus obliquus* und *quadricauda*, *Docidium bacculum*, *Pediastrum Boryanum*, *Anabaena* und *Spirogyra*-Fäden sowie andere.

Außer diesen sind vorhanden einige *Navicula*-Arten, spärliche Infusorien *(Phacus* und *Euglena).* Pflanzlicher Detritus ist nur in geringer Menge vorhanden.

I. Am zweiten Tag fallen sofort in einzelnen Zellen selbst sowie diesen anhaftende kleine, gelbliche und bräunliche, starre, lichtbrechende Tröpfchen auf (Taf. I, Fig. 2, *abc*).

Der Zellinhalt hat eine rostgelbe Farbe angenommen. Manche Zellen sind durch die Tröpfchen förmlich bedeckt.

Stellenweise kann man wahrnehmen, daß diese Tröpfchen die Neigung besitzen, sich zu vereinigen, denn es kommen Tröpfchen verschiedener Größe vor.

Am dritten Tag hat die Ausscheidung von Tröpfchen wesentlich abgenommen, dafür findet man aber im ganzen Präparate ziemlich reichliche, große Sphärokristalle, welche im durchfallenden Lichte schmutzig orangegelb, im auffallenden Lichte leuchtend gelb erscheinen (Taf. I, Fig. 2, *d*, *e*). Außer diesen finden sich dort, wo größere Anhäufungen von Algen vorkommen, deutliche Büschel von gelben Nadeln, welche mit den bis jetzt gesehenen Osazonen identisch waren.

Um mich davon zu überzeugen, daß es sich in diesem Falle tatsächlich um ausgeschiedenes Osazon handelt, habe ich diesen Versuch mit einer größeren Menge (1 cm^3 des Zentrifugates) durchgeführt. Nach zwei Tagen waren die Sphärite wieder zu finden.

Nun wurde das Ganze auf ein kleines Filterchen abgespritzt, zuerst das Glyzerin durch wiederholtes Nachwaschen

mit kleinen Mengen Wassers entfernt und darauf der Rückstand mit heißem Alkohol erschöpft.

Der Alkohol färbte sich intensiv gelb und hinterläßt nach Verdunsten hübsche, kleine, typische Osazonbüschel.

Eine kleine Probe der am Filter gebliebenen Algen zeigt unter dem Mikroskope, daß die früher so reichlich vorhandenen kleinen Kügelchen verschwunden sind.

II. Das heiß behandelte Präparat verhielt sich genau wie das sub I angeführte, nur erfolgte die Ausscheidung der Sphärokörner schon in einem Tage.

Bei einem anderen Versuche, welchen ich mit Algen anstellte, die ich dem Aquarium des pflanzenphysiologischen Institutes entnahm (fast ausschließlich aus *Spirogyra*-Arten mit etwas *Zygnema* und *Ullothrix* untermischt), bekam ich das Osazon nicht.

Die Veränderung durch das Reagens äußerte sich nur in einer intensiven Rotfärbung der Chlorophyllkörper.

2. Crassula imbricata (Stengelquerschnitt).

Das Grundparenchym ist dicht mit Stärke gefüllt.

I. Die Stärke bleibt intakt. In Zellen, welche dicht mit Stärke gefüllt sind, zeigt sich eine intensiv gelbe Färbung.

Zu einer Osazonbildung kommt es auch nach einigen Tagen nicht.

II. Die Stärke ist vollkommen verkleistert und schon bei Abkühlen des Präparates kommt es zur Bildung von Osazon im ganzen Grundparenchym. Die Korkschichte erfährt in beiden Fällen eine intensive Braunfärbung.

3. Canna (Blattstiel).

I. Die Cuticula sowie die an beiden Seiten der Gefäßbündel im Halbkreise angeordneten Sklerenchymelemente färben sich intensiv gelb. Nach 24 Stunden scheiden sich in dem die Gefäßbündel scheidenartig umgebenden Parenchym der Bündelhülle Wiesner's[1] (Zuckerscheide), welche als eine kontinuierliche

[1] Wiesner, Anatomisches und Histochemisches über das Zuckerrohr in Karsten, Botanische Untersuchungen, Berlin 1867, p. 113.

Hülle die Gefäßbündel umkleidet, reichliche Sphärite von Osazon ab (Taf. I, Fig. 3).

II. Die Ausscheidung des Osazons ist viel reichlicher und es lagern sich im ganzen Grundparenchym kleine Sphärite in Form von Halbkugeln an den Zellwänden ab (Taf. I, Fig. 4). Die Bündelhülle ist stellenweise durch Osazone vollgepfropft, auch in den Siebbündeln sowie auch auf denselben scheidet sich massenhaft das Osazon ab.

4. **Maranta squarrosa** (Blattstielquerschnitt).

Das Grundgewebe führt nur in den peripheren Schichten Chlorophyll, im Zentrum ist es dicht mit Stärke erfüllt.

I. Die Cuticula sowie die verholzten Elemente der im Grundparenchym zerstreuten Gefäßbündel färben sich intensiv gelb.

Zu einer Ausscheidung von Osazon kommt es auch nach einigen Tagen nicht.

II. Schon bei Erwärmen färben sich die Schnitte intensiv gelb, nach $^{1}/_{2}$ Stunde ist die Stärke fast vollkommen aufgelöst und aufgequollen.

Bei Abkühlen scheiden sich im Grundparenchym massenhaft sehr schöne Büschel oder Sphärite von Osazon ab (Taf. I, Fig. 5).

Die Cuticula sowie die verholzten Elemente werden fast orangegelb gefärbt.

Stellenweise verlaufen einzelne Gefäßbündel quer durch den Blattstiel. Bei diesen hat sich das Osazon in der Zuckerscheide ausgeschieden. Die Gefäße selbst bleiben farblos.

5. **Crassula imbricata** (Blattlängsschnitt).

I. Die Chlorophyllkörner färben sich rostrot, sonst ist keine Veränderung merkbar.

II. Es erfolgt eine reichliche Abscheidung von Osazonbüscheln und Sphäriten, welche in der Blattspitze am reichlichsten sich vorfinden.

6. Convallaria majalis (Blätter).

In einem aus Mazzon in Südtirol stammenden Herbarmateriale von *C. majalis* fand Mitlacher[1] in den Blättern, insbesondere in der Epidermis und den angrenzenden Partien des Mesophylls massenhafte, zu Büscheln vereinigte Nadeln und Krystallaggregate, welche ganze Komplexe des Blattes eingenommen haben.

Nach seinen Untersuchungen über diesen Körper gelangt Mitlacher zum Schlusse, daß es sich hier wahrscheinlich um ausgeschiedene Kristalle von Zucker handelt, welcher aus dem Glykoside (Convallarin?) durch Einwirkung von Pilzen abgespalten wurde. Er bekam tatsächlich auch in den künstlich mit Schimmelpilzen infizierten, früher von diesen Krystallen freien Blättern, in den von Pilzen ergriffenen Stellen ähnliche Ausscheidungen von Krystallnadeln.

Die Untersuchung dieser Krystalle hat ebenfalls mit größter Wahrscheinlichkeit auf das Vorhandensein von Zucker gedeutet.

Ich benützte diese Gelegenheit zur Ausführung der Phenylhydrazinprobe und bekam an den Stellen, wo früher die Kristalle vorhanden waren, eine reichliche Ausscheidung von Osazon in Büschelform. Später traf sich noch zweimal die Gelegenheit, *Convallaria*-Blätter, welche von Pilzen befallen waren, zu untersuchen.

In beiden Fällen trat an den befallenen Stellen die Probe sehr deutlich auf.

Wenn auch in dem benachbarten Mesophyll ebenfalls eine Ausscheidung von Osazon stattfand, so war dieselbe im Vergleiche zu der lokalen massenhaften Ausscheidung verschwindend klein.

7. Flores Verbasci.

Die Staubgefäße verschiedener *Verbascum*-Arten sind behaart und erscheinen mit langen, dünnwandigen, einzelligen,

[1] Mitlacher, Die zur Neuaufnahme in die achte Ausgabe der österr. Pharmakopoe in Aussicht genommenen Drogen. Pharm. Post, 1902. Hb. *Convallariae*.

keulenförmigen Haaren bedeckt, in welchen sich nach Vogl,[1] ähnlich wie in den Epithelzellen der Filamente, eigentümliche, den Sphärokristallen von Inulin gleichende, gelb gefärbte Körner vorfinden.

Die Haare sind in frischem Zustande mit einem gelben Zellsaft erfüllt, aus dem nach Eintrocknen oder nach Zusatz von Glyzerin oder Alkohol die Sphärokristalle ausgeschieden werden und nach Vogl[2] einer Zuckerart anzugehören scheinen.

Dieses für meine Untersuchungen so geeignete Objekt behandelte ich zur Entscheidung der Frage, ob es sich hier tatsächlich um Zucker handelt, in der bekannten Art und verwendete hiezu eine frische Pflanze.

I. Die Cuticula der Haare färbt sich alsbald gelb, am zweiten Tage ist eine Ausscheidung von Osazon im Lumen der Haare angedeutet, am dritten Tage sieht man sehr schön ausgebildete, meist der Wand anliegende, intensiv gelbe Sphärite (Taf. I, Fig. 6).

II. Es kommt zur Bildung von Osazon außerhalb der Haare in Form von Sphäriten und Büscheln, welche den Haaren aufliegen oder unregelmäßig im Präparate zerstreut sind.

Daß es sich hier tatsächlich um ausgeschiedenes Osazon handelt, dafür spricht vor allem die Bildung desselben außerhalb des Präparates in Büscheln bei dem heiß behandelten Objekte, die sehr intensive fast orangerote Farbe der Sphärite sowie auch ihre Löslichkeit in Alkohol.

8. **Birne** (sehr zuckerreiche Spielart).

I. Nach 24 Stunden befinden sich im ganzen Präparate dichte Sphärite, oft zu zwei bis drei aneinander gereiht (Taf. I, Fig. 7), außerdem amorphe, intensiv gelb gefärbte Schollen in den einzelnen Zellen (Taf. I, Fig. 8).

Die Sklerenchymnester färben sich intensiv gelb. Die Ausscheidung des Osazons ist keine übermäßige.

II. In einigen Minuten färbt sich das ganze Präparat sowie auch die dasselbe umgebende Flüssigkeit intensiv gelb, etwa

[1] A. v. Vogl, Pharmakognosie, p. 128.

[2] L. c.

in 10 Minuten ist eine deutliche Ausscheidung von gelben, schon mit freiem Auge merkbaren Körnchen sichtbar.

Nach einer halben Stunde sieht man außerordentlich große, schöne, zu den verschiedensten, meist verzweigten Formen gruppierte Nadeln (Taf. I, Fig. 9), außerdem kleinere, zu Garben vereinigte Krystalle (Taf. I, Fig. 10 *a*, *b*, *c*, *d*).

Am zweiten Tage ist die Ausscheidung des Osazons noch deutlicher geworden und die im Parenchym zerstreuten Sklerenchymnester fallen schon bei der makroskopischen Besichtigung durch ihre orangerote Farbe auf. Außer den früher erwähnten Kristallformen sind noch kleine, stark lichtbrechende, gelbe Kugeln von deutlich krystallinischer Struktur entstanden (Taf. I, Fig. 11).

Manche von ihnen zeigen in der Mitte ein dunkleres Zentrum, um welches sich ein dichtes Kristallgefüge abgelagert hat (Taf. I, Fig. 12). Häufig ist die ganze Kristallaggregation so dicht, daß die Sphärokörner fast als vollkommen homogene Kugeln erscheinen.

Die schon in der Kälte erfolgte Reaktion ist auf das Vorhandensein von Invertzucker zurückzuführen.

Da jedoch die Birne sehr beträchtliche Mengen von Rohrzucker enthält, ist es natürlich, daß die Ausscheidung der Osazone durch die in der Hitze erfolgte Umsetzung des Rohrzuckers zu Invertzucker bedeutend stärker wird. Bei vielen der nächsten Versuche wiederholt sich dieser Umstand oft.

Das Vorkommen von Saccharose neben Glykose in süßen Früchten hat Hofmeister durch die Invertinmethode häufig nachgewiesen (Birne, Apfel, Hagebutte, Johannisbrot u. v. a.).

9. Apfel.

I. Bei der kalten Behandlung der Präparate kommt es zu einer lokalen Ausscheidung von Osazon in den Parenchymzellen.

Dasselbe erscheint in Form mehr weniger deutlich ausgebildeter Sphärite, welche entweder frei in den Zellen liegen oder häufig der Zellwand in Form von Halbkugeln anhaften (Taf. I, Fig. 13).

Außer diesen findet man in manchen Zellen amorphe Schollen, wie wir sie bei dem früheren Versuche gefunden haben; stellenweise zeigen jedoch diese anscheinend amorphen Gebilde eine deutliche kristallinische Struktur und es unterliegt keinem Zweifel, daß sich diese Massen allmählich aus den Büscheln, respektive Sphäriten umgebildet haben (Taf. I, Fig. 14).

Bei schwacher Vergrößerung fällt sofort die Anhäufung des Osazons in den Bündelhüllen auf.

Die Gefäße selbst bleiben farblos.

II. Reichliche Bildung von großen Büscheln, darunter manche aus etwas breiteren, straffen Nadeln, welche oft am Rande etwas ausgebreitet sind (Taf. I, Fig. 15). Am zweiten Tage kam es zur reichlichen Bildung kleiner Büschel und Sphärite; die Spitzen mancher Nadeln zeigen köpfchenförmige Anhäufungen sehr kleiner Kriställchen (Taf. I, Fig. 16).

10. **Feige** (frisch, unreif).

I. Spärliche Abscheidung von dichten Sphärokristallen, welche häufig eine ovale oder elliptische Gestalt annehmen und nicht selten zu mehreren aneinander gereiht sind (Taf. II, Fig. 1).

Die Ausscheidung des Osazons in der Bündelhülle (Zuckerscheide) ist hier außerordentlich schön sichtbar.

II. Reichliche Ausscheidung von Sphärokristallen. Die Bündelhülle ist reichlich gefüllt mit amorphen, länglichen, oft die ganzen Zellen ausfüllenden Osazonmassen (Taf. II, Fig. 2).

Die Gefäße selbst bleiben farblos.

11. **Feige getrocknet** (Kranzfeige).

Das Objekt ist zu zähe, um Schnitte anfertigen zu können. Es wurde daher ein Stückchen Fruchtfleisch zerquetscht und mit dem Reagens behandelt.

I. Die Peripherie des Präparates ist mit mäßigen Osazonsphäriten bedeckt, außerhalb des Objektes kam es zur reichlichen Ausscheidung von großen Sphäriten.

Das Innere des Präparates erscheint gelb gefärbt, Kristalle fehlen, da das Reagens in das Präparat nicht eindringen konnte.

II. Es kommt zu einer übermäßigen Ausscheidung von Osazonkristallen, welche meist zu Büscheln vereinigt sind. Manche von diesen sind durch die massenhafte Anhäufung der Nadeln in der Mitte fast homogen und nur die am Rande herausstrahlenden Nadelspitzen lassen noch die kristallinische Struktur derselben erkennen (Taf. II, Fig. 3, *a*, *b*, *c*).

Außer diesen bildet das Osazon kleine, auf der ganzen Oberfläche grob gekörnte Kügelchen (Taf. II, Fig. 4) und vollkommen homogen erscheinende Körper, meist von kugeliger oder unregelmäßiger Gestalt, welche auch bei den stärksten Vergrößerungen keine kristallinische Struktur mehr erkennen lassen (Taf. II, Fig. 5).

Hier finden wir die Bestätigung der Vorversuche, daß die Reaktion dort, wo der Zucker in fester Form ausgeschieden ist, zuerst eines Lösungsmittels bedarf, damit die Reaktion in vollem Maße auftritt.[1]

12. Johannisbrot.

I. Das ganze Parenchym färbt sich gelb und es scheiden sich kleine, gelbe, lockere Sphärite aus.

II. Das Parenchym färbt sich intensiv zitronengelb und das ganze Präparat ist mit enorm vielen kleinen Sphäriten bedeckt, jedoch auch hier steht die Ausscheidung des Osazons mit dem für Johannisbrot angenommenen Zuckergehalt von 60 % in keinem Verhältnis.

Diese Erscheinung ist ebenfalls auf den früher erwähnten Umstand zurückzuführen, daß der schon in den Früchten in Massen ausgeschiedene Zucker zuerst gelöst werden muß, damit die Reaktion vollkommen erfolgen kann.

Der Zucker kommt in den Parenchymzellen des Fruchtfleisches von *Ceratonia siliqua* in Form von eingetrockneten, durchscheinenden, den ganzen Zellraum ausfüllenden Massen oder auch Einzelkristallen vor.[2]

---

[1] Nach A. v. Vogl kommt in den Feigen der Zucker in Form warziger Massen ausgeschieden und beträgt bis 50 %. Die wichtigsten vegetabilischen Nahrungs- und Genußmittel. Wien 1899, p. 233.

[2] A. v. Vogl, Pharmakognosie.

13. Rosinen.

Das Fruchtfleisch der Rosinen ist so reich an Zucker, daß dieser häufig auskristallisiert.

Derselbe scheidet sich meist in Form amorpher Körper, häufig auch in Kristallen aus, welche nicht selten zu strahligen Gruppen angeordnet sind.[1]

Zur Untersuchung benützte ich je ein kleines Stückchen des Fruchtfleisches, welchem ich die Reagentien zusetzte und mit dem Deckgläschen zerquetschte.

I. Das Objekt färbt sich alsbald an der Peripherie gelb und am zweiten Tage findet eine starke Ausscheidung von Sphäriten statt, welche sich in der das Präparat umgebenden Flüssigkeit derart abgeschieden haben, daß die kleinsten um das Objekt herum liegen und gegen die Peripherie an Größe zunehmen.

Die am Rande des Deckgläschens liegenden Sphaerite sind meist aus zwei anscheinend homogenen, orangegelben Halbkugeln gebildet, welche sehr dicht mit außerordentlich feinen, hin- und hergebogenen Nadeln bedeckt sind (Taf. II, Fig. 6 *a*, *b*).

Die früher im Präparate vorhandenen, amorph erscheinenden Zuckerkörper haben sich zuerst aufgelöst und kristallisierten in der Mitte des Präparates, wo das Reagens keinen Zutritt hatte, in großer Menge von Nadeln wieder aus.

II. In den heiß behandelten Präparaten kommt es zu einer sofortigen Bildung eines fast rotbraunen, amorphen Niederschlages. Selbst nach der Abkühlung erfolgt keine Kristallausscheidung, da das gebildete Osazon keinen Raum zur Kristallisation findet. Nur an der Peripherie des Präparates, wo die Konzentration der Lösung eine geringere ist, bilden sich sehr dichte, orangegefärbte Sphärite.

14. Dattel.

Auch im Fruchtfleische der Datteln ist der Zucker so reichlich vorhanden, daß derselbe wie bei Rosinen in amorphen Massen oder auch Kristallen vorkommt.[2]

---

[1] A. v. Vogl, Pharmakognosie, Abbildung p. 546 und A. v. Vogl, Die wichtigsten vegetabilischen Nahrungs- und Genußmittel. Wien 1899, p. 231.

[2] A. v. Vogl, l. c. p. 231, Abbildung.

I. Reichliche Abscheidung von kleinen Osazonkristallen, welche wie im früheren Objekte so um das Präparat zu liegen kommen, daß die kleinsten derselben im Inneren, die größeren in der Peripherie des Präparates auftreten.

Eine massenhafte Abscheidung von Osazon findet in der Zuckerscheide statt.

II. Die Abscheidung des Osazons ist so stark, daß das ganze Präparat damit vollkommen bedeckt erscheint.

15. **Kaffeebohne** (ungeröstet).

I. Am Querschnitte durch das Endosperm der Kaffeebohne färbt sich nach Behandlung mit dem Reagens die Cuticula sowie auch das den Zellwänden anliegende Fett intensiv gelb (Taf. II, Fig. 7).

Zu einer Ausscheidung von Osazon kommt es selbst nach Wochen nicht.

II. Das Fett tritt in Form von zitronengelb gefärbten Kugeln oder Tröpfchen aus dem Zellinhalte heraus. Die Bildung von Osazon bleibt auch nach Wochen aus.

Obwohl diese Arbeit bloß das Prinzip der Methode ohne Diskussion der einzelnen Fälle bringt, will ich in diesem speziellen Falle in Anbetracht des negativen Ausfalles der Phenylhydrazinreaktion auf dieses Beispiel näher eingehen.

Die Angaben über den Zuckergehalt der Kaffeebohne sind verschieden. Das Mittel beträgt 9 $^0/_0$.

Es ist nämlich die Frage, ob der Zucker schon fertig gebildet in der Kaffeebohne vorkommt oder ob derselbe in einem Glykoside auftritt, welches erst durch Säuren, Enzyme, Hitze etc. den Zucker abgibt.

Molisch[1] glaubt, daß die von verschiedenen Seiten gemachten Annahmen, daß der Zucker hier in Form eines Glykosides vorkommt, unberechtigt sind.

Da eben aber nach Angabe desselben Autors die Fehlingsche Lösung nach kurzer Einwirkung verdünnter Salzsäure das wässerige Samenextrakt reduziert, ebenso wie ein Extrakt,

---

[1] Molisch, Grundriß einer Histochemie der pflanzlichen Genußmittel. Jena 1891, p. 10.

welches einige Minuten mit Hefe in Berührung war, ist es wohl wahrscheinlich, daß es sich hier um einen Körper glykosidischer Natur handelt, der erst, durch die Einwirkung der Säure oder eines Enzyms die Glykose abspaltend, die Reduktion ergibt.

Die kurze Dauer, welche nötig ist, um entweder durch Salzsäure oder durch Hefe die Spaltung hervorzurufen, spricht dafür, daß es sich um einen leicht spaltbaren Körper handelt.

Die Annahme von Molisch,[1] daß die rasch auftretende Raspail'sche Reaktion, welche ohne Zusatz von Zucker mit Schwefelsäure allein in wenigen Augenblicken in dem Zellinhalte des Endosperms auftritt, für ein reichliches Vorhandensein des Zuckers mit Bestimmtheit spricht, dürfte eben darin die Erklärung finden, daß durch Schwefelsäure aus dem vorhandenen Glykosid zuerst Zucker abgespalten wird und dann die Raspail'sche Reaktion auf Eiweißkörper (genau gesagt auf die einfach hydroxylierten aromatischen Gruppen im Eiweiß [2]) so verläuft, als wenn man Zucker zugesetzt hätte.

Hofmeister[3] gibt an, daß in den Kaffeebohnenschnitten vor der Inversion keine Reduktion eintritt, während nach derselben (mittels Hefeinverten) eine deutliche Reaktion zustande kommt.

Da es mir immer gelungen ist, mit meiner Methode Zucker nachzuweisen, wogegen die Reaktion bei der Kaffeebohne ausblieb, so glaube ich schließen zu dürfen, daß in derselben Zucker fertig gebildet nicht vorkommt, sondern in Form eines Glykosides.

Zum Schlusse sollen nur mehr einige ergänzende Tatsachen, welche sich bei der Durchführung dieser Reaktion herausgestellt haben, mitgeteilt werden.

Wiewohl die Phenylhydrazinprobe bei allen hier verzeichneten Objekten stets rasch erfolgte, konnte ich in einigen Fällen (es wurden etwa 100 Objekte untersucht) bemerken, daß sich etwa nach 14 Tagen sehr schöne, große, spießförmige,

---

[1] Molisch, l. c.

[2] Wiesner, Anatomie und Physiologie der Pflanzen, 4. Aufl. (Wien 1898), p. 337.

[3] Hofmeister, l. c.

schmale oder abgerundete, breite Blättchen gebildet haben, welche meist zu strahligen Gruppen vereinigt waren, mitunter auch in beträchtlich dicken Kryställchen sich zu Rosetten vereinigten (Taf. II, Fig. 8, 9, 10).

Es ist höchst wahrscheinlich, daß es sich hier ebenfalls um ausgeschiedenes Osazon handelt.

Solche Krystalle haben sich unter anderen Objekten sehr schön gebildet in den Blättern von *Ginko biloba* und der Wurzel von *Daucus Carota*.

Insbesondere in den Epidermiszellen des Stengel von *Elodea Canadensis* waren nach 14 Tagen sehr schöne, manchmal den ganzen Zellraum ausfüllende Rosetten ausgeschieden (Taf. II, Fig. 11).

Auf die Veränderungen, welche bei dieser Reaktion die Chlorophyllkörper erfahren haben, bin ich nicht speziell eingegangen. Es soll nur darauf aufmerksam gemacht werden daß dieselben manchmal vollkommen unverändert bleiben und ihre schöne grüne Farbe behalten (selbst bei Erwärmen der Schnitte), manchmal aber schon in den kalt behandelten Präparaten eine rostgelbe Färbung annehmen und ein stacheliges oder körniges Aussehen bekommen.

Noch eines weiteren Umstandes darf nicht vergessen werden. Es ist die intensive Gelbfärbung, welche die verholzten Membranen durch dieses Reagens erfahren.

Diese Gelbfärbung ist sehr verschieden. Die Gefäße bleiben fast oder vollkommen farblos, das verholzte Parenchym färbt sich intensiv zitronengelb bis orangegelb, die Steinzellen fast braun.

Ob hier die Speicherung des Zuckers die Ursache der Farbe ist, bleibe vorläufig unentschieden.

Mit chemisch reinem Holzzucker bekommt man bei der Phenylhydrazinprobe in der Kälte intensiv gelbe Färbungen, in dem heiß behandelten Präparate Ausscheidung von kleinen Büscheln des Xylosazons $C_{17}H_{20}N_4O_3$.

Ebenfalls wird bei der Ausführung der Phenylhydrazinprobe die verschieden stark auftretende, blaßgelbe bis braune Färbung der cuticularisierten sowie auch der verkorkten Membranen auffallen.

Aus den mitgeteilten Versuchen geht hervor, daß wir in dem essigsauren Phenylhydrazin ein sehr brauchbares Reagens zum mikrochemischen Zuckernachweise besitzen.

Es darf erwartet werden, daß dieses Reagens sowohl von den Anatomen als auch von den Physiologen mit Vorteil zur Lösung der zahlreichen Fragen über Vorkommen, Wanderung, Umwandlung und Entstehung des Zuckers wird verwendet werden können.

Zum Schlusse erfülle ich die angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Hofrat Prof. Dr. Julius Wiesner für die Aufforderung zu dieser Arbeit sowie für die mir erteilten Ratschläge meinen besten Dank zu sagen.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I.

1. Kristalle von Kupferoxydul. $^{1000}/_{1}$.
2. *a Micrasterias falcata*
b Scenedesmus quadricauda } nach Einwirkung des Reagens. $^{460}/_{1}$.
c Scenedesmus acutus
e, d Sphärokristalle des Osazon. $^{460}/_{1}$.
3. *Canna.* Eine Partie des Gefäßbündels vom Blatte. *scl* = Sclerenchym, *bh* = Bündelhülle mit ausgeschiedenen Osazonsphäriten. $^{350}/_{1}$.
4. *Canna.* Eine Partie aus dem Grundparenchym des Blattstieles mit an den Zellwänden abgeschiedenen Halbkugeln von Osazon. $^{350}/_{1}$.
5. *Maranta squarrosa.* Eine Partie des Grundparenchym aus dem Blattstiele mit ausgeschiedenen Osazonnadeln in Büscheln. $^{460}/_{1}$.
6. *Verbascum.* Haar mit ausgeschiedenen Osazonsphäriten. $^{350}/_{1}$.

7, 8, 9, 10, 11, 12. Birne. Verschiedene Osazonformen. $^{350}/_{1}$.

13, 14, 15, 16. Apfel. Verschiedene Osazonformen. $^{350}/_{1}$.

Tafel II.

1. Feige, frisch unreif, Osazonsphärite. $^{350}/_{1}$.
2. Feige, frisch unreif. *g* = ein Gefäß und die angrenzende Bündelhülle (*bh*) mit ausgeschiedenen Osazonmassen. $^{350}/_{1}$.

3, 4, 5. Feige, getrocknet. Verschiedene Osazonformen. $^{350}/_{1}$.

6. *a* und *b* Rosinen. Osazonformen. $^{350}/_{1}$.
7. Kaffeebohne. Eine periphere Partie des Endosperm am Querschnitte. *cut* = *cuticula.* Im Endosperm zahlreiche große durch das Reagens gelb gefärbte Fettröpfchen. $^{350}/_{1}$.

8, 9, 10. Große, breite, zu strahligen Gruppen geordnete Blättchen, welche sich nach 14tägiger Einwirkung des Reagens in den Blattschnitten von *Ginko biloba* und *Daucus Carota* abgeschieden haben. $^{350}/_{1}$.

11. *Elodea Canadensis. cut* = *cuticula, ep* = Epidermis, in welcher sich nach 14tägiger Einwirkung des Reagens große Rosetten und zu strahligen Gruppen vereinigte Kriställchen abgeschieden haben. $^{460}/_{1}$.



E. Senft del.

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth, Wien.



E. Senft del.

Lith. Anst. v. Th. Bannwarth Wien